

Z. Klin. Chem. Klin. Biochem.
12. Jg. 1974, S. 515–520

Eine Zweipunkt-Methode zur Bestimmung der Harnstoffkonzentration mit einem GEMSAEC-Analysengerät

Von R. Haeckel und D. Mathias

Technische Assistenz: Gudrun Runge

Institut für Klinische Chemie (Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. Dr. J. Büttner) Medizinische Hochschule Hannover

(Eingegangen am 24. Juni/13. August 1974)

Die Zuverlässigkeit eines Zwei-Punkt-Verfahrens zur enzymatischen Bestimmung der Harnstoffkonzentration in Serumproben wurde mit einem GEMSAEC-Analysengerät untersucht. Die Methode ist bis zu einer Konzentration von 23 mmol/l (140 mg/100 ml) linear und benötigt 5 µl Serum. Proben- und Reagenzienleerwert sind nicht erforderlich. 1–13 Ergebnisse liegen in 7,3 Minuten vor. Die kritische Serienlänge des Verfahrens liegt bei etwa 180 Proben.

A two point method for the determination of urea with a GEMSAEC analyzer

The reliability of a two point method for the enzymic determination of serum urea was investigated with a GEMSAEC analyzer. The method gives a linear response up to 23 mmol/l (140 mg/100 ml) and it requires 5 µl of serum. Sample and reagent blanks are not necessary, and 13 determinations are performed in 7.3 minutes. The critical series length for the method is about 180 samples.

Fawcett & Scott (1) beschrieben 1960 ein Verfahren zur Bestimmung der Harnstoffkonzentration in Serum oder Plasma, bei dem nach der Urease-Reaktion die NH_4 -Ionen mit Natriumhypochlorit und Phenol nachgewiesen werden. Die nach Berthelot benannte Indophenol-Reaktion wird durch zahlreiche Interferenzen gestört (2, 3). Außerdem wurde mehrfach (1, 3) darauf hingewiesen, daß das Mitführen eines Proben-Leerwertes für die genaue Bestimmung der Harnstoffkonzentration erforderlich ist.

Daher wurde versucht, die Indikator-Reaktion durch eine spezifischere zu ersetzen. 1965 koppelten Talke & Schubert (4) zu diesem Zweck die Glutamatdehydrogenase- mit der Urease-Reaktion. Bei Serumanalysen mit mechanisierten Endpunktverfahren ist ebenfalls ein Probenleerwert oder zumindestens eine Abtrennung der Proteine erforderlich. Um diese Schritte zu umgehen, wurde die Urease-Glutamatdehydrogenase-Reaktion als Zwei-Punkt-Meßprinzip an ein Küvettenrotorverfahren adaptiert.

Materialien

Kontrollseren

Merz und Dade (D-8 München): Monitrol I und II, Labtrol und Pathotrol. Dr. Molter GmbH (D-69 Heidelberg): Seronorm.

Boehringer-Mannheim GmbH (D-68 Mannheim): Precilip.

Behringwerke AG (D-355 Marburg): Kontrollserum für die Richtigkeit und Kontrollen.

Asid Institut GmbH (D-8 München): Kontrollserum für die Richtigkeit.

Standardlösung (10 mmol/l Harnstoff)

600,6 mg Harnstoff (Merck, Katalog Nr. 8487, im Vakuum über Nacht getrocknet) wird nach Zugabe von einigen Tropfen Chloroform (Merck, Bestell-Nr. 2445) in bidest. H_2O ad 1000 ml aufgelöst. Im Kühlschrank aufbewahrt ist diese Lösung 2 Monate verwendbar.

Die Konzentration wurde gelegentlich mit NBS-Standardsubstanz (National Bureau of Standards, bezogen durch Office of Standard Reference Materials, Room B 314, Chemistry Building, National Bureau of Standards, Washington, D.C. 20234, U.S.A.) überprüft.

Reaktionsgemisch

Die Reagenzien für die Urease-Glutamatdehydrogenase-Reaktion wurden der Testpackung von Calbiochem AG (CH-600 Luzern, Kat. Nr. 869236) entnommen.

15 ml bidest. Wasser werden in die NADH-Flasche der Calbiochem Testcombination für den Blood Urea Nitrogen STAT-PACKTM pipettiert und mit dieser Lösung der Inhalt der BUN-Flasche aufgelöst.

Das fertige Reaktionsgemisch ist nach sorgfältigem Mischen bei Raumtemperatur 6 Stunden, und im Kühlschrank etwa 12 Stunden haltbar. Die Konzentrationen des Reaktionsgemisches betragen (nach Angaben des Herstellers berechnet):

Tris-Puffer (pH 7,6)	62,0 mmol/l
Adenosin-5-diphosphat	1,34 mmol/l
2-Oxoglutarat	9,0 mmol/l
Urease	5,5 I.U./ml (30°C)
Glutamatdehydrogenase	13,4 I.U./ml (30°C)
NADH	0,2 mmol/l

Alle Lösungen werden mit deionisiertem und quartzdestilliertem Wasser (Leitfähigkeit < 0,5 µS) angesetzt.

Geräte

Electro Nucleonics Inc. (Fairfield 07006, U.S.A.): GEMSAEC Analyzer mit Kontrollmodul (Serien-Nummer 2113), Rotoloader (Seriennummer 3117) und Micromedic Dispenser (Seriennummer 557 für Probe + Diluent und Seriennummer 609 für Reagenzgemisch).

Technicon GmbH (D-6368 Bad Vilbel): SMA 12/60.

Eppendorf Gerätebau GmbH (D-2 Hamburg): Mikropipetten und Probe-Reagenzdosierer 5231.

DuPont-de Nemours (D-636 Friedberg): Automatic Clinical Analyzer (ACA).

Methodik**Vorbereitung der Proben**

Die Proben wurden entweder direkt als Serum in die Probengefäße des Rotoloaders eingesetzt oder nach einer 1 + 10 Verdünnung (bidest. Wasser) mit einem Probe-Reagenzdosierer.

Einstellung der Geräte

Siehe Zusammenstellung in Tabelle 1.

Je früher die erste Messung (t_1) erfolgt, desto größer wird zwar der Meßbereich, aber auch die Streuung der Ergebnisse. Die Ursache für diesen Effekt konnte nicht geklärt werden.

Bei der hohen Ausgangsextinktion und den relativ großen Volumina (200 µl Diluent und 500 µl Reaktionsgemisch) ist darauf zu achten, daß der Mischprozeß vor Beginn der ersten Messung weitgehend abgeschlossen ist. Dies läßt sich mit einer Bichromatlösung (5) oder NADH-Lösung prüfen: 500 µl Farblösung = 200 µl dest. H_2O .

Die Konzentration der Farblösung sollte bei 340 nm eine Extinktion von etwa $E = 1,0$ ergeben. In einem ersten Lauf läßt man die Extinktionsdifferenz zwischen 10 und 60 Sekunden und in einem zweiten Lauf zwischen 60 und 110 Sekunden bilden (gleiches Programm wie für die Harnstoffbestimmung). Dabei muß die Präzision der Extinktionsdifferenz von Küvette zu Küvette in beiden Läufen annähernd gleich sein. Ist der Variationskoeffizient im ersten Lauf wesentlich höher, kann der Mischprozeß gestört sein.

Probenfolge

Küvette 1	Bidest. Wasser
2	Standardlösung (10 mmol/l)
3	Kontrolle, bzw. Probe
4–15	Proben
16	Probe oder Endkontrolle

Tab. 1. Einstellung des GEMSAEC-Analysensystems für die Bestimmung der Harnstoffkonzentration

a) ohne Vorverdünnung:

Serum	µl	5	Rotoloader
Diluent (dest. H_2O)	µl	200	Rotoloader
Reagenzgemisch	µl	500	Rotoloader

b) Mit Vorverdünnung:

Serum	µl	50	Probe-Reagenzdosierer
Diluent (dest. H_2O)	µl	500	Probe-Reagenzdosierer
Verdünntes Serum	µl	50	Rotoloader
Diluent	µl	200	Rotoloader
Reagenzgemisch	µl	500	Rotoloader

1. Reading	30 s
Reading Intervall	20 s
Temperatur:	25°C
Wellenlänge	340 nm
Filter	335–385 nm

Header tape: Decreasing rate reaction with ratiometric calculation

Nachweisgrenze

Bidest. Wasser wird wie eine Probe in Serie analysiert. Die Streuung der Einzelwerte ist als dreifache Standardabweichung nach Kaiser (8) ein Maß für die Nachweisgrenze.

Wiederfindungsversuch

1. 9,0 ml bidest. H_2O + 1,0 ml Harnstofflösung (100 mmol/l),
2. 9,0 ml Serum + 1,0 ml Harnstofflösung (100 mmol/l),
3. 9,0 ml Serum + 1,0 ml bidest. H_2O .

Die Wiederfindung beträgt 100 %, wenn die Harnstoffkonzentration in Ansatz 2 gleich der Summe in Ansatz 1 + 3 ist.

Interferenzen wurden nach dem gleichen Pipettierschema untersucht, indem Bilirubin- (Bilirubin Kontrollserum von Merz und Dade, D-8 München), bzw. Hämoglobin-haltige Lösungen anstelle der Harnstofflösung eingesetzt wurden. Die Hämoglobin-Lösung wurde nach Lehmann & Hutmans (9) hergestellt und deren Konzentration mit einer Cyan-Methämoglobin Methode (10) bestimmt.

Die Verschleppung von niedrigen zu hohen Konzentrationen (Q_1) und von hohen zu niedrigen Konzentrationen (Q_2) wurden wie kürzlich beschrieben (6, 7) untersucht.

Statistik

Die Präzision-in-der-Serie wurde mit 2 identischen Kontrollproben in Küvette 4 (x_a) und 5 (x_b) bestimmt ($n = 2$ m; m = Anzahl der Wertepaare):

$$(1) \quad \bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n (x_{ai} + x_{bi})}{n}$$

$$(2) \quad s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_{ai} - x_{bi})^2}{n}}$$

$$(3) \quad VK = \frac{100s}{\bar{x}}$$

Die Präzision-von-Tag-zu-Tag wurde nach Formel (5) entweder aus den x_a - oder den x_b -Werten berechnet (n = Anzahl der Werte):

$$(4) \quad \bar{x}_a = \frac{\sum_{i=1}^n x_{ai}}{n}$$

$$(5) \quad s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_{ai} - \bar{x}_a)^2}{n - 1}}$$

Ergebnisse und Diskussion**Reaktionsbedingungen**

Es wurde davon ausgegangen, die auf dem Markt (bisher einzige) erhältliche Testkombination der Urease-Glutamatdehydrogenase Reaktion zur Bestimmung der Harnstoffkonzentration möglichst unverändert zu verwenden. Unter den gewählten Versuchsbedingungen wird der in Abbildung 1 für verschiedene Harnstoffkonzentrationen dargestellte Reaktionsverlauf beobachtet. Die vom Gerät ausgedruckte Extinktionsdifferenz (ΔE pro Minute) für die Standardkonzentration (10 mmol/l) ist chargenabhängig; sie sollte zwischen 0,12 und 0,18 (Mittelwert:

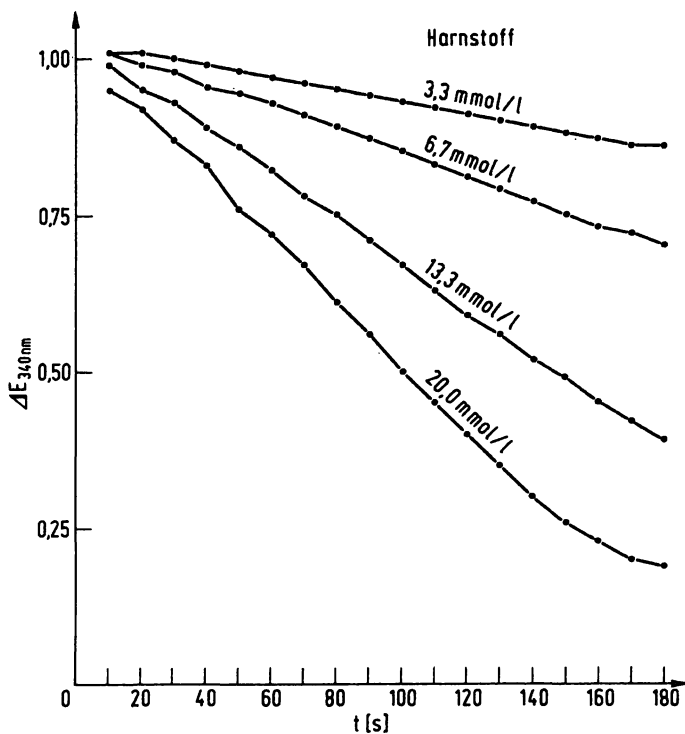


Abb. 1. Kinetik der Urease-Glutamatdehydrogenase Reaktion mit wässrigen Harnstofflösungen verschiedener Konzentration. Die einzelnen Punkte entsprechen den ausgedruckten Meßwerten.

0,1511; Standardabweichung: 0,0103; $n = 91$) liegen. Bei kleinerer Extinktionsdifferenz sollte das reading interval vergrößert (bis maximal 50 Sekunden), bei größerer Differenz entsprechend verringert und die

Methode mit Preciset (Boehringer Mannheim, Best.Nr. 15727) und verschiedenen Kontrollseren überprüft werden.

Präzision

Die Überalles-Präzision des optischen und read-out Systems wurde mit Bichromatlösung untersucht und in einer vorangegangenen Mitteilung publiziert (5).

Die Präzision des Rotoloaders (Tabelle 2) ist mit unseren früheren Angaben, die mit einem anderen Modell durchgeführt wurden (5), vergleichbar. In Tabelle 3 ist die Präzision von-Tag-zu-Tag und in-der-Serie für verschiedene Kontrollseren zusammengestellt. Die Ausführungsbestimmungen und Erläuterungen zu den Richtlinien der Bundesärztekammer (Präzision von-Tag-zu-Tag: VK

Tab. 2. Präzision des Rotoloaders

Station	Volumeneinstellung ¹⁾	\bar{x} (μ l)	n	s	VK (%)
Probe	5	5,3	17	0,18	3,3
	50	49,9	20	0,29	0,6
Diluent	5 + 200	203,4	15	0,42	0,2
	50 + 200	248,7	15	0,16	0,1
Reagenz	500	498,8	20	0,43	0,1
	100	98,5	20	0,38	0,4
	200	198,6	20	0,38	0,2

¹⁾ Die Volumenbestimmung erfolgte durch Auswägung von ausgestoßenem (bidest.) Wasser. Die Schlauchspitze des Pipettors wurde an den Rand des Aufnahmegefäßes gehalten.

Tab. 3. Die Präzision in-der-Serie (VK_S) und von-Tag-zu-Tag (VK_T) der Harnstoffbestimmung mit einem GEMSAEC-Analysengerät.

Kontrollserum	$\bar{x}^1)$	S_s	VK_S	$n^2)$	\bar{x}	S_T	VK_T	n
Monitrol I (LTD-124 A) ³⁾	5,7	0,14	2,4	14	5,7	0,18	3,1	14
Monitrol II ⁴⁾ (PTD-32 A)	14,4	0,16	1,1	14	14,4	0,31	2,15	14
Seronorm (119)	9,2	0,17	1,9	14	9,2	0,19	2,1	14
Labtrol (LT 40 P)	6,1	0,13	2,2	14	6,1	0,19	3,1	14
Pathotrol (PT 66 A)	12,1	0,19	1,6	14	12,1	0,24	2,0	14
Kontrollogen L (115 C)	3,6	0,13	3,7	14	3,6	0,16	4,4	14
Asid Richtigkeit (403 B)	3,9	0,07	1,9	18	3,9	0,19	4,9	18
Labtrol (40 P)	6,6	0,07	1,0	18	6,6	0,14	2,1	18
Seronorm (124)	12,6	0,22	1,8	18	12,6	0,22	1,8	18

¹⁾ Mittelwert (mmol/l), Standardabweichung (s), Variationskoeffizient (VK) und Anzahl der Werte (n)

²⁾ Anzahl der Wertepaare

³⁾ Chargen-Nummer

⁴⁾ Sollwert: 14,7

< 10 %) und die Forderung des College of American Pathologists (Präzision von-Tag-zu-Tag: VK < 4,2 %) werden voll erfüllt (14,15). Die Dosierung von vorverdünntem Serum in einem größeren Volumen (50 µl) führt nicht zu einer besseren Präzision der Ergebnisse als die Pipettierung eines kleinen, unverdünnten Probenvolumens (5 µl).

Richtigkeit

Das von uns gewählte Verfahren ist bis zu einer Harnstoffkonzentration von 23 mmol/l linear (Abb. 2). In unserem Labor werden mit diesem Bereich 94 % aller anfallenden Harnstoffbestimmungen erfaßt

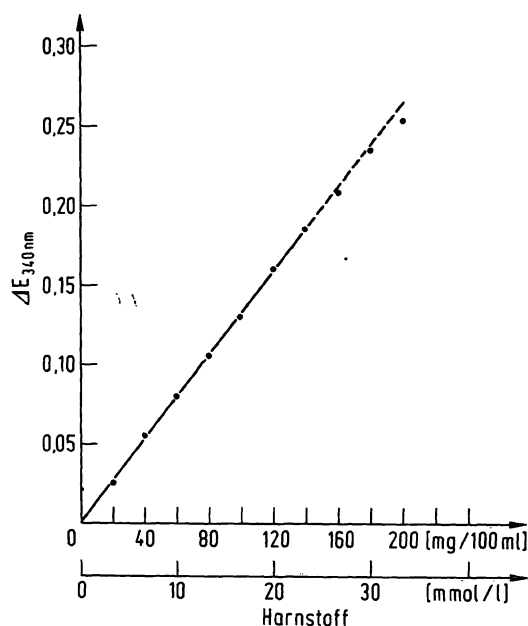


Abb. 2. Kalibriergerade der Bestimmung der Harnstoffkonzentration in wässrigen Lösungen mit dem GEMSAEC-Analysengerät. Regressionsgerade zwischen $x = 0$ und $x = 23 \text{ mmol/l}$: $y = 0,007931 x - 0,000026$, $r = 0,9996$.

(85 % im Bereitschaftslabor, 98 % in der Standardroutine, $n = 3800$). Bei Konzentrationen über 23 mmol/l wird die Probe in der ersten Verdünnungsstufe 1:5 (100 µl Serum + 400 µl bidest. H₂O) verdünnt.

Die Wiederfindungsrate betrug 96–104 % in verschiedenen Humansenen (Tabelle 4). Dementsprechend fanden wir eine gute Korrelation zwischen Werten, die mit dem GEMSAEC- und dem ACA Gerät, sowie mit der Diacetylmonoxim Methode (SMA 12/60) bestimmt wurden (Abb. 3a, b). Ähnlich gute Übereinstimmungen fanden wir bei Kontrollseren für die Richtigkeit (Tabelle 5 und 6). Bei einem Kontrollserum (Labtrol) trat jedoch eine deutliche Abweichung zwischen dem Sollwert und den mit den erwähnten Analysensystemen ermittelten Ergebnissen auf. Der Wert des GEMSAEC-Gerätes lag über dem Sollwert und dem der ACA- und SMA 12/60 Geräte.

Verschleppung und Drift

Verschleppungseffekte konnten unter den gewählten Bedingungen an verschiedenen Tagen selbst bei einer extremen Konzentrationsdifferenz von 2 und 100 mmol/l Harnstoff nicht festgestellt werden. Dies gilt auch bei Dosierung von 50 Mikroliter vorverdünnter Proben. Drifteffekte können ebenfalls vernachlässigt werden (5), da die zu messende Reaktion nur 50 Sekunden dauert.

Interferenzen

Lipämische Trübungen und Bilirubin stören unter den von uns untersuchten Bedingungen die Bestimmung der Harnstoffkonzentration nicht (Tabelle 4). Auch die von mehreren Autoren (11, 12) mit der Urease-Berthelot-schen Reaktion beschriebene Hämoglobin-Interferenz wurde nicht beobachtet.

Tab. 4. Wiederfindung von Harnstoff, der verschiedenen Seren hinzugefügt wurde. Es handelt sich um mindestens 4 Bestimmungen pro Wert.

Probe	Harnstoff, berechnet (1 + 3)* [mmol/l]	Harnstoff, gefunden 2* [mmol/l]	Wiederfindung [%]	Konzentration der interferierenden Substanzen
Serum 1	15,3	15,0	98,0	
Serum 2	18,0	17,2	95,6	
Serum 3	14,4	14,0	97,2	
Serum 4	15,4	15,7	101,9	
Serum 5	13,6	13,9	102,2	
Serum 6 (lipämisch)	16,2	16,3	100,6	Triglyceride: 5,62 mmol/l
Serum 7 (lipämisch)	15,0	14,8	98,7	Triglyceride: 5,20 mmol/l
Serum 8 (lipämisch)	38,7	37,8	97,7	Triglyceride: 5,65 mmol/l
Serum 9 (lipämisch)	15,3	15,3	100,0	Triglyceride: 5,03 mmol/l
Serum 10 (lipämisch)	26,4	25,6	97,0	Triglyceride: 4,89 mmol/l
Serum 11 + Bilirubin	9,5	9,1	95,8	Bilirubin: 342 µmol/l
Serum 12 + Bilirubin	9,6	10,0	104,1	Bilirubin: 342 µmol/l
Hämoglobininlösung	10,4	10,4	100,0	Hämoglobin: 9 g/l

* Siehe unter Methodik

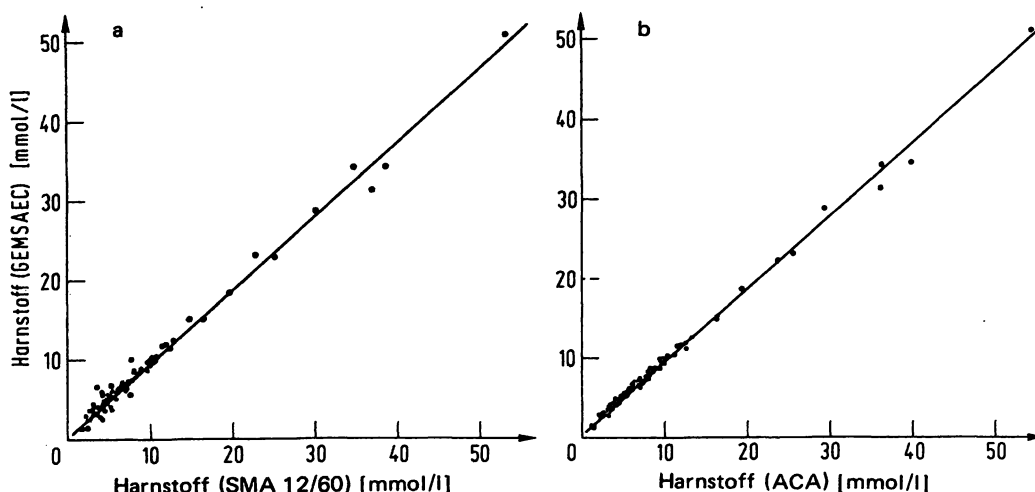


Abb. 3. Vergleichende Bestimmungen der Harnstoffkonzentration in Humanserum mit dem GEMSAEC-Analysensystem sowie dem SMA 12/60 von Technicon (a) und dem Automatic Clinical Analyzer von DuPont-de Nemours (b), die nach Vorschrift der Hersteller bedient wurden. Regressionsanalyse: a) $y = 0,92x + 0,56$, $r = 0,99$ ($n = 122$ Wertepaare); b) $y = 0,91x + 0,76$, $r = 0,99$ ($n = 120$ Wertepaare).

Tab. 5. Richtigkeitsprüfung des Zweipunkt-Verfahrens zur Bestimmung der Harnstoffkonzentration in kommerziellen Kontrollseren.

	Sollwert						Gefundener Wert (GEMSAEC)	Chargen-Nummer
	Urease-Berthelot (Boehringer Reagenzien)		Urease-Berthelot (Merckotest)		Diacetylmonoxim (Autoanalyzer)			
	$\bar{x}^1)$	$\bar{x} \pm 2s$	\bar{x}	$\bar{x} \pm 2s$	\bar{x}	$\bar{x} \pm 2s$		
Monitrol I	5,9	5,2– 6,6	5,6	4,9– 6,3	5,7	5,0– 6,4	5,7 ²⁾	LTD-124 A
Monitrol II	18,0	16,3–19,7	17,0	15,3–18,7	17,5	15,8–19,2	16,8 ³⁾	PTD-29 A, B
Labtrol	6,6	6,1– 7,1	7,0	6,5– 7,5	6,5	6,0– 7,0	7,9 ²⁾	LT-38 A
Pathotrol	11,2	9,9–12,5	12,5	11,2–13,8	11,4	10,1–12,7	12,5 ³⁾	PT-65 A
Seronorm		12,5	11,7–13,3		13,0	12,7–13,3	12,6 ²⁾	124
Seronorm		9,4	8,7–10,1		9,4	8,9– 9,9	9,2 ²⁾	119
Precilip	4,7	4,3– 5,2					4,2 ³⁾	312
Kontrollogen		3,7	3,3– 4,0				3,6 ²⁾	115 C
Asid Richtigkeit		4,7	4,0– 5,3		4,7	4,2– 5,2	3,9 ²⁾	403 B
Behring Richtigkeit		6,0	5,4– 6,6		5,5	5,0– 5,9	6,2 ³⁾	117 P

¹⁾ auf dem Beipackzettel angegebener Sollwert und Vertrauensbereich

²⁾ Standardabweichung: Siehe Tabelle 3 bzw. Tabelle 6

³⁾ Mittelwert aus mindestens 2 Bestimmungen.

Tab. 6. Vergleichende Bestimmung der Harnstoffkonzentration in 3 Kontrollseren (Chargennummer und Sollwerte: Siehe Tabelle 5) mit verschiedenen Analysensystemen. Der Automatic Clinical Analyzer von DuPont-de Nemours und der SMA 12/60 von Technicon wurden nach Vorschrift der Hersteller bedient. Manuelles Verfahren: Merckotest Nr. 3334. Die Zahlen bedeuten Mittelwerte (mmol/l) und Standardabweichung (in Klammer), Anzahl der Werte: $n = 18$.

Analysensystem	GEMSAEC	ACA	SMA 12/60	Manuell
Labtrol	7,9 (0,43)	6,2 (0,08)	6,6 (0,20)	7,3 (0,5)
Pathotrol	12,5 (0,43)	11,4 (0,21)	11,3 (0,22)	12,5 (0,63)
Asid – Richtigkeit	3,9 (0,09)	–	4,6 (0,16)	4,6 (0,29)
Seronorm	12,6 (0,37)	–	12,6 (0,15)	12,0 (0,74)
Labtrol	6,6 (0,26)	–	5,4 (0,13)	5,5 (0,48)

Nachweisgrenze

Die nach Kaiser berechnete Nachweisgrenze betrug 0,14 mmol/l (Mittelwert aus 3 Serien à 14 Werten). Richterich & Küffer (11) haben vor kurzem ein alternatives Verfahren zur Bestimmung der Nachweisgrenze vorgeschlagen. Danach wird die Standardabweichung gegen den jeweiligen Mittelwert in ein Koordinatensystem eingezeichnet. Bei linearer Auftragung schneidet die Regressionsgerade die Ordinate in einem bestimmten Punkt, der als Schätzgröße für die Standardabweichung bei der theoretischen Konzentration „Null“ bezeichnet werden kann (Abb. 4). Multipliziert man den Ordinaten-schnittpunkt mit 3, so stimmt der erhaltene Wert (0,14 mmol/l) bei der beschriebenen Bestimmung der Harnstoffkonzentration gut mit der nach Kaiser ermittelten Nachweisgrenze überein.

Wirtschaftlichkeit

Die kritische Serienlänge gibt an, wieviel Proben pro Tag in einer Serie mindestens anfallen müssen, damit

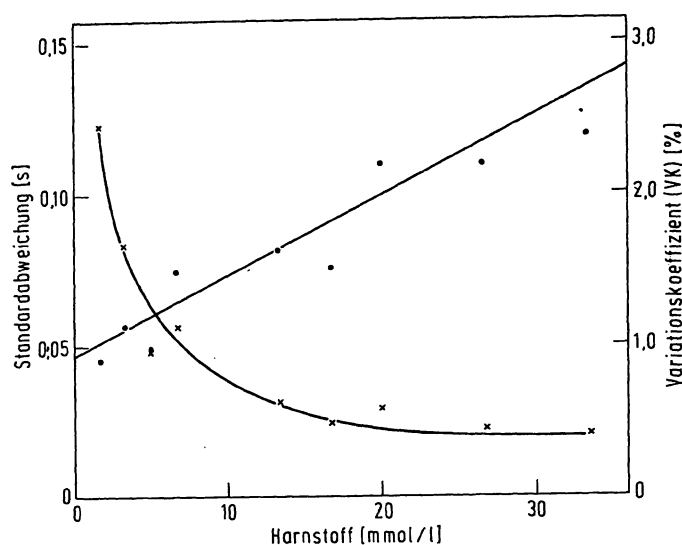


Abb. 4. Standardabweichung (●—●) und Variationskoeffizient (x—x) in Abhängigkeit von der Harnstoffkonzentration bei der enzymatischen Zweipunkt-Bestimmung mit einem GEMSAEC-Analysengerät. Regressionsgerade der Standardabweichung: $y = 0,0023 x + 0,0469$, $r = 0,9379$.

der Einsatz eines mechanisierten Analysensystems wirtschaftlich wird. Die Schätzung dieser Größe kann mit Formeln durchgeführt werden, die kürzlich mitgeteilt wurden (13). Bei der kritischen Serienlänge sind die Gesamtkosten, die sich aus fixen und variablen Kosten zusammensetzen, für das mechanisierte und eine manuelle Vergleichsmethode gleich groß. Die verwendeten Analysenzeiten für das manuelle Verfahren entsprechen früheren Angaben (13) und für das GEMSAEC-System den Ausführungen in Tabelle 7. Unter diesen Bedingungen beträgt die kritische Serienlänge für die Harnstoffbestimmung etwa 186 Proben (Tabelle 8). Dieser Wert liegt wegen der im Vergleich zur manuellen Methode teureren Reagenzien relativ hoch. Er zeigt aber in Übereinstimmung mit früheren Schätzungen (13) daß die Anschaffung eines solchen Systems erst wirtschaftlich wird, wenn etwa 200 Analysen pro Tag durch-

geführt werden können. Die Umrüstzeit fällt dabei mit dem GEMSAEC-System kaum ins Gewicht.

Tab. 7. Analysenzeit (Minuten) pro Rotor (13 Proben, 1 Leerwert, 1 Standard, 1 Präzisionskontrolle) für die enzymatische Harnstoffbestimmung mit einem GEMSAEC-Gerät.

Füllen des Rotors mit Rotorloader	4,0
Umsetzen des Rotors	0,5
Analysenzeit einschließlich des Ergebnis-Ausdruckes	2,8
Gesamtzeit des 1. Laufes	7,3
Gesamtzeit der folgenden Läufe	4,5

Tab. 8. Die kritische Serienlänge für die enzymatische Harnstoffbestimmung mit dem GEMSAEC Analysengerät im Vergleich zu einer manuellen Methode mit der Boehringer Testcombination Nr. 15930. Die Preise sind den Listen der Hersteller vom letzten Quartal 1973 entnommen. Personalkosten: 0,22 DM/min (13).

Methode	Manuell (A)	GEMSAEC (B)
<i>a) Fixe Kosten (K_f)</i>		
I. Gerätekosten	(DM) 8.627,20 ¹⁾	163.609,00
II. 3 % von I	(DM) 258,82	4.908,00
III. Glaswaren	(DM) 223,20	—
IV. Einmalmaterial pro Serie	(DM) 0,30	0,13
V. Reagenzienkosten für Leerwert, Standard und Präzision	(DM) 0,51	—
$K_f = (I + II \times 5)/1800 + III/100 + IV + V$	(DM) 8,55	104,66
<i>b) Variable Kosten</i>		
I. Einmalmaterial pro Probe	(DM) 0,10	0,03
II. Reagenzienkosten pro Probe	(DM) 0,17	0,30 ²⁾
III. Analysenzeit t_1	(min) 50	7,3
	(10 Proben)	(13 Proben)
t_2	(min) 320	40,8
	(100 Proben)	(104 Proben)
Kritische Serienlänge ³⁾	—	178

1) Eppendorf Photometer, 1 Wasserbad, 3 Eppendorf-Pipetten (20, 100, 200 μ l), 2 Absaugvorrichtungen, 1 Küvettenhalter, 1 Filter 546 nm.

2) einschließlich Reagenzienkosten für Standard- und Kontrollprobenwert pro Lauf.

3) Berechnet nach Gleichung 4 aus l.c. (13).

Literatur

- Fawcett, J. K. & Scott, J. E. (1960) J. Clin. Pathol. 13, 156–159.
- Lorentz, K. (1967), diese Z. 5, 291–298.
- Richterich, R. (1973), diese Z. 11, 553–564.
- Talke, H. & Schubert, G. E. (1965), Klin. Wochenschr. 43, 174–175.
- Haeckel, R. (1973), diese Z. 11, 234–248.
- Haeckel, R. & Porth, A. J. (1972), diese Z. 10, 91–94.
- Haeckel, R. (1972), diese Z., 10, 235–242.
- Kaiser, H. (1965), Z. Analyt. Chem. 209, 1–18.
- Lehmann, H. & Huntsman, R. G. (1966), Man's haemoglobins. North-Holland Publishing Co., Amsterdam.
- Drabkin, D. L. & Austin, J. H. (1935), J. Biol. Chem. 112, 51–88.
- Richterich, R. & Küffer, H. (1973), diese Z. 11, 553–564.
- Shull, B., Cheng, Ch. & Rahill, W. J. (1973), Clin. Chem. 19, 1226.
- Haeckel, R., Höpfel, P. & Höner, G. (1974), diese Z. 12, 14–22.
- Ausführungsbestimmungen und Erläuterungen zu den Richtlinien der Bundesärztekammer zur Durchführung der statistischen Qualitätskontrolle und von Ringversuchen im Bereich der Heilkunde (1974). Deut. Ärzteblatt 71, 961–964.
- Büttner, J., Hansert, E. & Stamm, D. (1970), in (U. Bergmeyer, Hrsg.): Methoden der Enzymatischen Analyse, Verlag Chemie Weinheim, 282–364.

Prof. Dr. R. Haeckel
3 Hannover
Karl-Wiechert-Allee 9